

No title available.

Patent Number: FR2770776
Publication date: 1999-05-14
Inventor(s): BONTE FREDERIC; DUMAS MARC
Applicant(s):: LVMH RECH (FR)
Requested Patent: ☐ FR2770776
Application Number: FR19970014023 19971107
Priority Number(s): FR19970014023 19971107
IPC Classification: A61K7/48 ; A61K31/215
EC Classification: A61K7/48C16, A61K31/70B, A61K31/70L15, A61K45/06
Equivalents: ☐ EP1028705 (WO9924009), ☐ WO9924009

Abstract

The invention concerns novel uses of d-xylose, the esters thereof and oligosaccharides containing D-xylose for improving the functionality of epidermal cells. More particularly, it concerns the use of a compound selected among the group consisting of D-xylose, its esters, in particular fatty acid esters or D-galacturonic acid ester, and oligosaccharides containing D-xylose, as cosmetic or dermatological agent for stimulating synthesis and/or secretion of proteoglycans (PG) and/or glycosaminoglycans (GAG) by keratinocytes, in particular keratinocytes of the epidermis and of tissues with a keratinocyte coating compartment such as the mucous membranes, in particular the lips, and the skin appendages, in particular hair follicles, said agent being incorporated in a cosmetic or pharmaceutical composition.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 07.11.97.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 14.05.99 Bulletin 99/19.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥① Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : LVMH RECHERCHE GROUPEMENT
D'INTERET ECONOMIQUE — FR.

⑦② Inventeur(s) : BONTE FREDERIC et DUMAS MARC.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET BEAU DE LOMENIE.

⑤④ UTILISATIONS DU D-XYLOSE ET DE SES ESTERS POUR AMELIORER LA FONCTIONNALITE DES
CELLULES DE L'EPIDERME.

⑤⑦ L'invention concerne de nouvelles utilisations du D-
xylose et de ses esters pour améliorer la fonctionnalité des
cellules de l'épiderme.

Elle concerne plus particulièrement l'utilisation du D-xy-
lose et de ses esters, en particulier l'ester de l'acide D-ga-
lacturonique, pour la préparation de compositions
cosmétiques ou pharmaceutiques, notamment dermatologi-
ques, destinées à stimuler la synthèse et la sécrétion des
protéoglycannes et des glycosaminoglycannes par les kérat-
inocytes, notamment les kératinocytes de l'épiderme et des
tissus possédant un compartiment kératinocytaire de revê-
tement tels que les muqueuses et les annexes cutanées tel-
les que les follicules pileux.

Elle concerne également des milieux de culture de cel-
lules de peau comprenant des kératinocytes, dans lesquels
on introduit du D-xylose ou un de ses esters, en particulier
l'ester de l'acide D-galacturonique, en vue de stimuler la
synthèse des glycosaminoglycannes et des protéoglycan-
nes. De tels milieux sont en particulier utilisables pour la
préparation de tissus vivants, en particulier dans le domaine
des greffes.

FR 2 770 776 - A1



L'invention concerne de nouvelles utilisations du D-xylose et de ses
5 esters pour améliorer la fonctionnalité des cellules de l'épiderme.

Elle concerne plus précisément de nouvelles utilisations dans le
domaine de la cosmétique et de la pharmacie, notamment de la dermatologie, où
l'on cherche à améliorer cette fonctionnalité, par stimulation de la synthèse des
protéoglycannes et des glycosaminoglycannes, ce qui conduit, en particulier à une
10 meilleure hydratation de l'épiderme.

Elle concerne également de nouvelles applications des mêmes produits
comme agents destinés à améliorer la qualité de milieux de culture de
kératinocytes, en vue en particulier de préparer des tissus vivants utilisables en
particulier dans le domaine des greffes.

15 Dans l'ensemble du présent mémoire, on désignera les
protéoglycannes par l'abréviation PG et les glycosaminoglycannes par l'abréviation
GAG.

Lorsque l'on souhaite améliorer l'hydratation de la peau, on peut faire
appel à des produits dont l'action est reliée :

- 20 - soit à un effet occlusif : cette propriété permet de réguler la perte en
eau par création d'une barrière qui s'oppose au passage des molécules d'eau,
- soit à un effet humectant : ces produits agissent par hygroscopie,
- soit à un effet de différenciation des kératinocytes conduisant à une
hydratation de la peau : cette action permet d'aboutir à la formation des
25 cornéocytes, en particulier de l'enveloppe cornée et à celle des substances
synthétisées par les kératinocytes au cours de leur différenciation,
- soit à un effet d'augmentation du pouvoir de rétention d'eau des
espaces intercellulaires : cet effet peut être obtenu en favorisant la synthèse des PG
et/ou des GAG par les cellules de la peau, notamment par les kératinocytes et/ou
30 les fibroblastes.

Les PG, autrefois appelés mucopolysaccharides sont des
macromolécules complexes constituées d'une protéine centrale, également appelée
« protéine porteuse », substituée au niveau de ses résidus sérine avec des chaînes
osidiques appelées GAG. Ces chaînes consistent en une succession d'hexosamines
35 (glucosamine ou galactosamine) en alternance avec un autre sucre (glucuronique
ou iduronique). Dans la peau, elles sont sulfatées en position 2, 4, 6 ou sur la

fonction amine. (*Structure and metabolism of proteoglycans and glycosaminoglycans*, J. E. Silbert, *J. Invest. Dermatol.*, (1982), 79, 31-37).

Les PG, tout comme les GAG, sont sécrétés dans la peau par les kératinocytes et les fibroblastes et sont responsables pour partie de son
5 hydratation.

L'organisme est soumis en permanence à de nombreuses agressions de la part du milieu extérieur.

La peau remplit un rôle de protection de l'organisme contre le milieu extérieur. L'épiderme est la barrière extérieure de la peau. Il est constitué
10 notamment de kératinocytes, qui se différencient au cours de leur migration de la couche basale de l'épiderme jusqu'à la couche cornée de l'épiderme.

Une des fonctions les plus importantes de cette barrière qu'est l'épiderme, est d'empêcher la perte d'eau par l'organisme. C'est également de combattre les diverses agressions physiques, chimiques et microbiennes du milieu
15 environnant.

La lutte contre la perte d'eau est assurée en grande partie par les PG et les GAG, présents en grande quantité dans le milieu extra-cellulaire. Ces molécules participent de manière importante à l'hydratation et à la minéralisation (fixation de contre-ions) des matrices extra-cellulaires grâce notamment à leur
20 capacité de fixer de l'eau. Elles participent également activement au bon fonctionnement des cellules de l'épiderme.

Ces PG et GAG sont, en particulier, synthétisés par les kératinocytes dans l'épiderme.

Ces PG et GAG, une fois synthétisés par une cellule, restent dans la
25 matrice extra-cellulaire entourant cette cellule et ne migrent pas ou peu.

Les PG représentent environ 0,2 % du poids sec de la peau, ce qui est peu en comparaison de la quantité de collagène par exemple qui représente plus de 75% de ce poids sec (*The collagens : biochemistry and physiopathology*, E.J. Kucharz, Ed. Springer-Verlag, 1992). Cela ne reflète en rien l'importance
30 physiologique des PG et des GAG.

En effet, par leurs structures osidiques polyanioniques, ces molécules ont la particularité de s'associer très fortement avec des contre-ions (sodium et potassium) et des molécules d'eau. Elles ont la capacité de fixer de l'eau jusqu'à 1000 fois leur volume, formant ainsi des gels. Elles se comportent donc comme
35 des hydratants naturels et minéralisants de l'épiderme, en particulier des cellules de l'épiderme, notamment des cellules germinatives, des membranes basales

cellulaires, des annexes cutanées en particulier des follicules pileux et également des matrices extra-cellulaires comme celle de la jonction dermo-épidermique (JDE). Les PG et les GAG jouent donc un rôle déterminant dans la fonctionnalité de ces cellules et de la matrice sur laquelle ces cellules adhèrent.

5 Les GAG les plus abondants de la peau sont l'acide hyaluronique (50% de l'acide hyaluronique de l'organisme est dans la peau) et le dermatan sulfate, alors que d'autres sont retrouvés en plus petite quantité comme les chondroitin-4 et -6-sulfate, l'heparan sulfate et le keratan sulfate. L'acide hyaluronique est sans doute l'agent hydratant de la peau le plus connu. On notera,
10 qu'à la différence des autres GAG, cette molécule n'est pas sulfatée et n'est pas non plus fixée à une protéine porteuse.

L'épiderme contient de la chondroitin-4-sulfate et du keratan sulfate. La jonction dermo-épidermique contient de la chondroitin-6-sulfate et de l'heparan sulfate, qui sont très importants dans la cohésion entre le derme et
15 l'épiderme. L'acide hyaluronique est localisé principalement dans la couche basale et de façon moindre dans la couche spinieuse (*Age-dependant changes of hyaluronan in human skin, L.J.M. Meyer and R. Stern, J. Invest. Dermatol., (1994), 102, 385-389*).

On sait aussi que le vieillissement a un retentissement important sur la
20 teneur et la distribution des PG et des GAG dans la peau. L'acide hyaluronique, voit sa distribution épidermique chuter de manière drastique au point de n'être plus détecté dans l'épiderme sénescant. (*Age-dependant changes of hyaluronan in human skin, L.J.M. Meyer and R. Stern, J. Invest. Dermatol., (1994), 102, 385-389*). De la même manière on note une diminution de la chondroitin-6-sulfate
25 localisée principalement dans la Jonction Dermo-Epidermique (JDE) (*Patterns of glycosaminoglycan/proteoglycan immunostaining in human skin during ageing, M.D. Willen, J. Invest. Dermatol., (1996), 968-974*).

Le D-xylose est un sucre bien connu de la famille des aldoses à 5 carbones. Pour sa description, ses sources et ses principales propriétés, on pourra
30 se reporter à la publication du Merck Index 20^{ème} édition (1996), n°10220.

Dans le cadre de la présente invention, on a maintenant découvert de manière surprenante que le D-xylose ainsi que ses esters permettait de stimuler de manière importante et significative la synthèse et la sécrétion des PG et des GAG par les kératinocytes humains.

35 Ainsi, le D-xylose grâce à son action stimulante de la synthèse des PG et des GAG par les kératinocytes épidermiques ainsi que ses esters peuvent être

utilisés dans des compositions à usage topique cosmétiques ou pharmaceutiques, notamment dermatologiques, permettant de favoriser l'hydratation de la peau, en particulier celle de l'épiderme, mais aussi des tissus possédant un compartiment kératinocytaire de revêtement comme les muqueuses en particulier des lèvres, et
5 également les annexes cutanées en particulier les follicules pileux.

Le D-xylose et ses esters peuvent être aussi utilisés pour prévenir ou traiter les effets du vieillissement cutané, en particulier les effets sur l'épiderme qui est le siège d'un fort déclin de la teneur en PG et en GAG avec l'âge, s'accompagnant en particulier d'une plus grande sécheresse cutanée.

10 Le D-xylose et ses esters peuvent en outre être avantageusement utilisés dans des cultures de kératinocytes.

A cet égard il est possible d'utiliser le D-xylose ou ses esters lors de la préparation de peaux artificielles, obtenues par cultures de kératinocytes en présence d'autres cellules de la peau. On obtient ainsi des tissus vivants contenant
15 une plus grande quantité de PG et de GAG et donc ayant un potentiel d'hydratation plus grand. Ceci est particulièrement intéressant dans le cadre de greffes.

Ainsi, selon l'une de ses caractéristiques, l'invention concerne l'utilisation du D-xylose ou d'un de ses esters, en particulier l'ester de l'acide D-galacturonique, comme agent cosmétique destiné à hydrater la couche basale de
20 l'épiderme et/ou à stimuler la synthèse et la sécrétion des protéoglycannes (PG) et des glycosaminoglycannes (GAG) par les kératinocytes, notamment les kératinocytes de l'épiderme et des tissus possédant un compartiment kératinocytaire de revêtement tels que les muqueuses, en particulier les lèvres, et
25 les annexes cutanées, en particulier les follicules pileux, ledit agent étant incorporé dans une composition cosmétique comprenant un véhicule cosmétiquement acceptable.

Selon une variante particulièrement avantageuse, on choisira le D-xylose qui présente l'avantage d'être un produit commercial.

30 Toutefois, on pourra également recourir à l'un de ses esters, en particulier l'ester de l'acide D-galacturonique.

Selon l'une de ses autres caractéristiques, l'invention concerne également des utilisations du même composé ou de ses esters pour préparer des compositions pharmaceutiques, notamment dermatologiques, destinées à traiter
35 les insuffisances de l'hydratation de la couche basale de l'épiderme et/ou de la synthèse ou de la sécrétion des protéoglycannes (PG) et des glycosaminoglycannes

(GAG) par les kératinocytes, en vue de corriger les effets négatifs desdites insuffisances, en particulier d'améliorer l'état fonctionnel des cellules de la peau, notamment de l'épiderme.

Dans les compositions aussi bien cosmétiques que pharmaceutiques de l'invention, le D-xylose ou son ester sera avantageusement présent à une concentration comprise entre 0,001 et 5 %, de préférence entre 0,01 et 0,5 % en poids par rapport au poids de ladite composition.

D'une façon générale, les compositions de l'invention seront avantageusement formulées pour une application topique. Il pourra en particulier s'agir d'émulsions, de lotions, de gels, de rouges à lèvres, de mascaras.

Selon une autre variante de l'invention, la composition cosmétique ou pharmaceutique, notamment dermatologique, pourra comprendre des liposomes, le D-xylose ou son ester se trouvant soit à l'extérieur desdits liposomes, soit partiellement ou totalement incorporé dans lesdits liposomes.

Enfin, selon une variante particulièrement intéressante de l'invention, le D-xylose ou son ester pourra être combiné dans la composition de l'invention avec un certain nombre de principes actifs tels que :

- des sucres aminés, en particulier la D-glucosamine et la D-galactosamine ;
- des acides aminés, en particulier la L-sérine ou tout extrait en contenant, en particulier des extraits d'algues ;
- de l'ascorbate de sodium (vitamine C) et de ses dérivés comme le phosphate, le palmitate, l'acétate ou le propionate ;
- de la vitamine A (appelé aussi rétinol), de ses esters et dérivés en particulier le palmitate, l'acétate et le propionate ;
- de l'acide madécassique, de l'acide asiatique et de leurs dérivés glycosylés ;
- des vitamines du groupe B, en particulier les vitamines B1, B6 et B12 et l'acide folique ;
- de la vitamine PP ;
- de la forskoline, de ses dérivés et des extraits de *coléus forskolii* ;
- de l'acide salicylique et ses dérivés, en particulier ceux à chaînes lipophiles ;
- l'ecdystérone et ses dérivés, en particulier les acétates ;
- des rétinoïdes, en particulier l'acide rétinoïque, le rétinaldéhyde et le rétinylphosphate ;
- des oligo-éléments, tels que la silice et ses dérivés comme le silanol, le magnésium et ses sels, le manganèse et ses sels ;
- des extraits de *Potentilla erecta* ;

- des extraits de fruits, en particulier de pomme et de citron, en particulier l'eau de pomme ou ses polyphénols ;
- des inhibiteurs des phosphodiésterases, en particulier les xanthines ;
- des extraits de *Siegesbeckia orientalis* ou de Daturoside ;
- 5 - des extraits de *Centella asiatica* enrichi en triterpènes ;
- des extraits de *Bertholletia* ;
- de l'acide chlorogénique, de l'acide caféique, de l'acide sinapique et de l'acide caféoyl quinique ;
- des substances antiradicalaires, en particulier les oligomères procyanidoliques,
- 10 les extraits de thé vert, de pépins de raisins, l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA), les extraits de curcumine et les curcuminoides.

Selon une autre de ses caractéristiques essentielles, l'invention concerne également un procédé de traitement cosmétique ou pharmaceutique selon lequel on cherche à hydrater la couche basale de l'épiderme et/ou à stimuler
15 la synthèse et la sécrétion des protéoglycannes (PG) et des glycosaminoglycannes (GAG). Selon ce procédé, on applique sur la partie du corps concerné une quantité efficace de D-xylose ou d'un de ses esters pour obtenir la stimulation desdites synthèse et sécrétion.

Les compositions utilisées dans ces procédés de traitement sont celles
20 décrites précédemment.

Enfin, selon une autre de ses caractéristiques essentielles, l'invention concerne un procédé de traitement d'un milieu de culture de cellules de peau comprenant des kératinocytes pour obtenir une stimulation de la synthèse et de la sécrétion des glycosaminoglycannes (GAG) et de protéoglycannes (PG).
25 caractérisé en ce qu'il consiste à introduire dans ledit milieu de culture une concentration efficace de D-xylose ou d'un de ses esters, notamment l'ester de l'acide D-galacturonique dans ledit milieu pour obtenir la stimulation desdites synthèse et sécrétion.

Les milieux de culture contiennent avantageusement de 0,01 à 5 %, de
30 préférence 0,01 à 0,5 %, en poids de D-xylose ou d'un de ses esters.

Ces milieux de culture trouvent une application particulièrement intéressante pour la préparation de peaux artificielles obtenues par cultures de kératinocytes en présence d'autres cellules de peau. On obtient ainsi des tissus vivants contenant une grande quantité de PG et de GAG et donc ayant un potentiel
35 d'hydratation accru et présentant en outre une structure extra-cellulaire

tridimensionnelle grâce à la capacité qu'ont les PG et GAG de former des gels. Ceci s'avère particulièrement intéressant dans le cadre des greffes.

Les exemples suivants sont donnés à titre purement illustratif de l'invention.

5

EXEMPLES

Exemple 1

1.1- Principe général du test.

10 Des cultures de kératinocytes humains normaux ont été réalisées in-vitro, en présence de D-xylose, dans un milieu contenant deux traceurs radioactifs qui s'incorporent dans les chaînes osidiques des PG et des GAG lors de la synthèse de ces molécules.

Ces traceurs permettent de mesurer la quantité de PG et de GAG.

15 Il existe deux familles de GAG qui diffèrent par leurs chaînes sucrées. L'une est à base d'enchaînement de glucosamines et l'autre à base d'enchaînement de galactosamines. C'est pourquoi on a utilisé deux traceurs radioactifs différents, la ^3H -D-glucosamine et la ^{14}C -D-galactosamine, qui s'incorporent dans les chaînes osidiques des PG et des GAG au cours de leur synthèse. Ce protocole permet de
20 bien évaluer la synthèse de l'ensemble des GAG et, accessoirement, de montrer que le xylose agit de manière globale sur l'ensemble des synthèses de ces familles moléculaires.

1.2- Protocole détaillé de mise en œuvre du test.

25 Ensemencement des cellules:

Pour mettre en évidence l'effet du D-xylose, on ensemence 25000 kératinocytes humains normaux dans des puits de culture (plaque de 96 puits Falcon, 25000 kératinocytes par puits) dans 100 μl de milieu de culture pour
30 kératinocytes (K-SFM, Gibco). Les cellules sont incubées 24 h à 37°C dans une atmosphère saturée en humidité avec 5% de CO_2 .

Traitement des cellules:

Au bout de ces 24 heures, le milieu d'ensemencement est remplacé par 100 μl de milieu K-SFM avec addition de D-xylose à des concentrations non
35 cytotoxiques de 1, 5 et 10 mM (solution aqueuse de la molécule introduite à 0,1% v/v) avec deux traceurs radioactifs, à savoir la ^3H -D-glucosamine et la

^{14}C -D-galactosamine ($4\mu\text{Ci/ml}$, Amersham). Dans les cultures témoin, la non-utilisation de D-xylose est compensée par un ajout à 0,1% v/v d'eau. Les cultures sont alors incubées 48h à 37°C en atmosphère saturée en humidité et avec 5% de CO_2 .

5

Dosage des PG et des GAG sécrétés.

Les surnageants de culture sont collectés, réunis deux à deux pour avoir un volume d'échantillon plus important, et traités avec 200 μl de pronase à 0,2 mg/ml (Sigma) pendant 17h à 37°C afin d'hydrolyser la protéine porteuse et libérer les GAG des PG. L'enzyme est ensuite inactivée par chauffage pendant 10 min dans de l'eau bouillante. Puis on revient à température ambiante. Une précipitation sélective des GAG est réalisée avec 40 μl de chlorure de cetylpyridinium (CPC à 100 mg/ml, Sigma) en présence de 40 μl d'un mélange d'acide hyaluronique (Fluka) de dermatan sulfate (Fluka) et de chondroitin sulfate (Sigma) tous à 2 mg/ml (ce qui fait un ajout d'une solution contenant 6 mg/ml de GAG non radioactifs). On ajoute ces GAG non radioactifs pour déclencher la précipitation et entraîner les GAG radioactifs (qui pris seuls seraient en quantité insuffisante pour précipiter) dans le précipité. Le précipité obtenu est lavé 2 fois avec 400 μl d'une solution de CPC à 10 mg/ml, puis solubilisé dans 500 μl de méthanol (Merck). La radioactivité est finalement mesurée en scintillation liquide avec 10 ml de liquide scintillant (Packard).

Il faut noter que dans l'exploitation des résultats, les GAG dont on a mesuré la synthèse ont deux origines. Ils proviennent à la fois des GAG synthétisés et sécrétés et des PG synthétisés et sécrétés (qui ont subi une hydrolyse par la pronase pour les besoins du dosage).

25

Dosage des protéines cellulaires:

Afin de ramener la radioactivité à une quantité unitaire de matériel cellulaire, un dosage des protéines cellulaires est effectué. Après élimination du milieu de culture et deux rinçages avec un tampon phosphate pH=7,2 (PBS, Gibco), le tapis cellulaire des puits de culture est dissous dans 30 μl de NaOH 0,1M à 37°C et les plaques agitées pendant 30 mn à 37°C . Dans chaque puits on ajoute 200 μl de réactif à l'acide biccinchoninique/sulfate de Cu^{++} (Kit Sigma). On fait incuber pendant 30 min à 37°C et à l'obscurité. Les protéines que l'on veut doser réduisent les ions cuivrique (Cu^{++}) du sulfate de cuivre en ions cuivreux (Cu^+). Ces derniers forment avec l'acide biccinchoninique des complexes

35

chromogènes absorbant à 570 nm, qui est la longueur d'onde utilisée pour la mesure de la densité optique. Parallèlement, une gamme d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions expérimentales avec de l'albumine sérique bovine (BSA, Sigma) de 0 à 100 µg/puits, afin de traduire les densités optiques (DO) obtenues avec les protéines cellulaires en µg d'équivalent BSA par puits.

Expression des résultats:

Les quantités de GAG mesurées seront ramenées à une quantité unitaire de protéine (exprimée en µg d'équivalent BSA).

L'activité « A » de stimulation de la sécrétion des GAG est calculée sous forme d'un pourcentage, selon la formule suivante :

$$A = \left(\frac{q_p - q_t}{q_t} \right) \times 100$$

Dans laquelle q_p et q_t , respectivement pour les cultures traitées par le D-xylose et pour les cultures témoin non traitées, représentent la quantité de GAG libérée, exprimée en nombre de désintégrations par minute (dpm) et ramenée à 1 µg de protéine équivalent BSA.

Statistiques:

Le test t de student sera effectué pour déterminer si les sécrétions de PG et de GAG en présence de D-xylose sont significativement stimulées comparées aux cultures témoins, et pour comparer les valeurs de viabilité cellulaire obtenue entre cellules témoins et traitées.

1.3- Produit testé.

D-xylose pur à 99% (SIGMA ; référence : X3877)

1.4- Résultats du test.

Stimulation de synthèse et de la sécrétion des GAG et des PG par le D-xylose.

En utilisant la ^3H -D-glucosamine comme traceur de la synthèse des PG et des GAG.

D-xylose en mM	GAG dpm/ μ g de protéine	A(%)	test t de Student valeur de p
0	1387 \pm 116		
1	2148 \pm 160	55	<0,0001 (S)
5	2661 \pm 202	92	<0,0001 (S)
10	2950 \pm 262	113	<0,0001 (S)

En utilisant la ^{14}C -D-galactosamine comme traceur de la synthèse des PG et des GAG.

D-xylose en mM	GAG dpm/ μ g de protéine	A(%)	test t de Student valeur de p
0	102 \pm 8		
1	136 \pm 12	34	<0,0001 (S)
5	209 \pm 15	105	<0,0001 (S)
10	250 \pm 28	145	<0,0001 (S)

5

S: différences significatives entre culture témoins et traitées ($p < 0,05$)

NS: différences non significatives entre témoins et traités ($p > 0,05$)

1-5- Analyse et discussion des résultats.

10

Il apparaît, à la lecture des tableaux, une augmentation importante et significative des GAG radioactifs sécrétés dans les cultures traitées par le D-xylose par comparaison avec les cultures témoins.

15

On voit que le D-xylose stimule très fortement la synthèse, ainsi que la sécrétion extracellulaire, des PG et des GAG par les kératinocytes de l'épiderme humain et ce, quel que soit le traceur radioactif utilisé pour suivre cette synthèse.

20

Compte tenu des propriétés déjà décrites des PG et des GAG, le D-xylose apparaît comme un agent particulièrement intéressant en cosmétique et en pharmacie en stimulant la synthèse et la sécrétion des PG et des GAG, et permettant de ce fait d'obtenir une restauration ou une régulation de l'hydratation de l'épiderme et une meilleure fonctionnalité des cellules épidermiques.

Exemple 2 : Emulsion hydratante anti-âge.

D-xylose	...0,2g
Céramides de blé	...0,2g
Protéines de blé	...1g
Extrait de pomme	...1g
Palmitate de vitamine A	...0,01g
Acétate de vitamine E	...0,1g
Excipient pénétrant avec conservateurs et parfums	...qsp 100g

5 Cette émulsion est utilisée en application topique quotidienne sur le visage. Cette préparation nourrissante améliore l'hydratation cutanée, la finesse de la peau, le grain de la peau et atténue les rides.

Exemple 3 : Gel hydratant raffermissant.

D-xylose	...0,3g
Extrait d'algue rouge	...0,5g
Extrait de Centella asiatica	...0,1g
Extrait de Bertholletia	...0,05g
Vitamine C magnésium phosphate	...0,1g
Excipient avec conservateurs et parfums	...qsp 100g

10

Ce gel hydratant est utilisé en application topique quotidienne sur le visage, le cou et le buste. Il exerce un effet tenseur sur la peau et en améliore la souplesse.

Exemple 4 : Gel liposomal hydratant et réparateur.

D-xylose	...0,2g
Lécithine de soja	...2g
Protéines de blé	...3g
Acétate de vitamine A	...0,01g
α -tocophérol	...0,01g
Excipient avec conservateurs et parfums	...qsp 100g

15

Ce gel liposomal est utilisé en application quotidienne, de préférence le soir et sur le visage. Cette composition améliore la souplesse de la peau et son hydratation pour sa régénération.

5 **Exemple 5** : Lotion hydratante et tonifiante.

D-xylose	...0,2g
Extrait de Panax ginseng	...0,2g
AMP cyclique	...0,05g
Théophilline	...0,1g
Excipient avec conservateurs et parfums	...qsp 100g

Cette lotion hydratante est utilisée en application topique quotidienne sur le visage de préférence le matin pour une peau plus belle, plus éclatante.

10

Exemple 6 : Mascara hydratant.

D-xylose	...0,3g
Acide hyaluronique	...0,5g
Pigments colorés	...10g
Cires	...30g
Excipient	...qsp 100g

15 Ce maquillage traitant pour le visage permet d'hydrater la peau et de l'assouplir tout en masquant les ridules superficielles pour un aspect plus soyeux..

Exemple 7 : Gel liposomal hydratant et réparateur.

D-xylose	...0.5g
Phosphate de vitamine E	...1g
Oxydes de fer	...8g
Billes de nylon Orgasol	...3g
Excipient émulsion	...qsp 100g

20

Ce maquillage de soin pour le visage en application quotidienne permet d'assouplir la peau et de l'hydrater tout en la protégeant.

REVENDEICATIONS

1. Utilisation du D-xylose ou un de ses esters, en particulier l'ester de l'acide D-galacturonique, comme agent cosmétique destiné à hydrater la couche
5 basale de l'épiderme et/ou à stimuler la synthèse et la sécrétion des protéoglycannes (PG) et des glycosaminoglycannes (GAG) par les kératinocytes, notamment les kératinocytes de l'épiderme et des tissus possédant un compartiment kératinocytaire de revêtement tels que les muqueuses, en particulier les lèvres, et les annexes cutanées, en particulier les follicules pileux, ledit agent
10 étant incorporé dans une composition cosmétique comprenant un véhicule cosmétiquement acceptable.

2. Utilisation du D-xylose ou d'un de ses esters, en particulier l'ester de l'acide D-galacturonique pour la fabrication d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à traiter les insuffisances de l'hydratation de
15 la couche basale de l'épiderme et/ou de la synthèse ou de la sécrétion des protéoglycannes (PG) et des glycosaminoglycannes (GAG) par les kératinocytes, en vue de corriger les effets négatifs desdites insuffisances, en particulier d'améliorer l'état fonctionnel des cellules de la peau, notamment de l'épiderme.

3. Utilisation selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce
20 que le D-xylose ou son ester est présent dans ladite composition à une concentration comprise entre 0,001 et 5 %, de préférence entre 0,01 et 0,5 %, en poids par rapport au poids de ladite composition.

4. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ladite composition est formulée pour une application topique.

5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce
25 que ladite composition contient des liposomes, le D-xylose ou son ester se trouvant soit à l'extérieur desdits liposomes, soit partiellement ou totalement incorporé dans lesdits liposomes.

6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce
30 que ladite composition contient en outre au moins un autre principe actif choisi dans le groupe constitué :

- des sucres aminés, en particulier la D-glucosamine et la D-galactosamine ;
- des acides aminés, en particulier la L-sérine ou tout extrait en contenant, en particulier des extraits d'algues ;
- 35 - de l'ascorbate de sodium (vitamine C) et de ses dérivés comme le phosphate, le palmitate, l'acétate ou le propionate ;

- de la vitamine A (appelé aussi rétinol), de ses esters et dérivés en particulier le palmitate, l'acétate et le propionate ;
- de l'acide madécassique, de l'acide asiatique et de leurs dérivés glycosylés ;
- des vitamines du groupe B, en particulier les vitamines B1, B6 et B12 et l'acide folique ;
- de la vitamine PP ;
- de la forskoline, de ses dérivés et des extraits de *coléus forskolii* ;
- de l'acide salicylique et ses dérivés, en particulier ceux à chaînes lipophiles ;
- l'ecdystérone et ses dérivés, en particulier les acétates ;
- des rétinoïdes, en particulier l'acide rétinoïque, le rétinaldéhyde et le rétinylphosphate ;
- des oligo-éléments, tels que la silice et ses dérivés comme le silanol, le magnésium et ses sels, le manganèse et ses sels ;
- des extraits de *Potentilla erecta* ;
- des extraits de fruits, en particulier de pomme et de citron, en particulier l'eau de pomme ou ses polyphénols ;
- des inhibiteurs des phosphodiesterases, en particulier les xanthines ;
- des extraits de *Siegesbeckia orientalis* ou de *Daturosida* ;
- des extraits de *Centella asiatica* enrichi en triterpènes ;
- des extraits de *Bertholletia* ;
- de l'acide chlorogénique, de l'acide caféique, de l'acide sinapique et de l'acide caféoyl quinique ;
- des substances antiradicalaires, en particulier les oligomères procyanidoliques, les extraits de thé vert, de pépins de raisins, l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA), les extraits de curcumine et les curcuminoides.

7. Procédé de traitement cosmétique destiné à hydrater la couche basale de l'épiderme et/ou à stimuler la synthèse et la sécrétion des protéoglycannes (PG) et des glycosaminoglycannes (GAG), caractérisé en ce qu'il comprend l'application d'une quantité cosmétiquement efficace de D-xylose ou d'un de ses esters, notamment l'ester de l'acide D-galacturonique pour obtenir la stimulation desdites synthèse et sécrétion, ledit D-xylose ou son ester étant contenu dans un excipient cosmétiquement acceptable.

8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que le D-xylose ou son ester est présent dans la composition à une concentration comprise entre 0,01 et 5 % en poids, de préférence entre 0,01 et 0,5 % en poids.

9. Procédé de traitement d'un milieu de culture de cellules de peau comprenant des kératinocytes pour obtenir une stimulation de la synthèse et de la sécrétion des glycosaminoglycannes (GAG) et des protéoglycannes (PG), caractérisé en ce qu'il consiste à introduire dans ledit milieu de culture une
5 concentration efficace de D-xylose ou d'un de ses esters, notamment l'ester de l'acide D-galacturonique, dans ledit milieu pour obtenir la stimulation desdites synthèse et sécrétion.

10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que la concentration en poids de D-xylose ou d'un de ses esters dans ledit milieu de culture est comprise entre 0,001 et 5 %, de préférence entre 0,01 et 0,5 % en poids
10 par rapport au poids dudit milieu.

11. Utilisation du procédé selon l'une des revendications 9 ou 10 pour la préparation de tissus vivants contenant une quantité de PG et de GAG augmentée, utilisables en particulier pour des greffes.

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE

tabli sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 551816
FR 9714023

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	CH 368 267 A (CHEM. FABRIK PROMONTA G.M.B.H.) 15 mai 1963 * revendications * * page 1, ligne 20 - ligne 53 * * page 2, ligne 47 - ligne 81 * ---	1-4,6-8
A	CH 642 851 A (BEREMA SA) 15 mai 1984 * le document en entier * ---	1-5
A	DATABASE WPI Section Ch, Week 9633 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D17, AN 96-329415 XP002071196 & JP 08 151 313 A (KANEBO LTD) * abrégé * -----	1
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
		A61K
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
10 juillet 1998		McConnell, C
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou amorce-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intermédiaire		
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		

1
EPO FORM 1503 03.82 (P04C13)